

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2000-65778

(P2000-65778A)

(43)公開日 平成12年3月3日(2000.3.3)

(51) Int.Cl.⁷

G 01 N 27/327

識別記号

F I

G 01 N 27/30

テマコード(参考)

3 5 3 P

3 5 3 A

審査請求 未請求 請求項の数4 OL (全7頁)

(21)出願番号 特願平10-239853

(22)出願日 平成10年8月26日(1998.8.26)

(71)出願人 000005821

松下電器産業株式会社

大阪府門真市大字門真1006番地

(72)発明者 池田 信

大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器
産業株式会社内

(72)発明者 吉岡 俊彦

大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器
産業株式会社内

(72)発明者 南海 史朗

大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器
産業株式会社内

(74)代理人 100072431

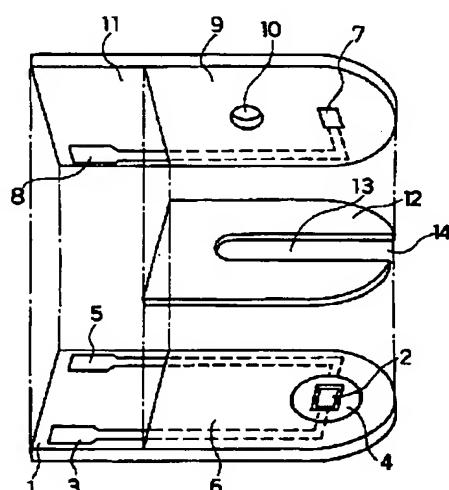
弁理士 石井 和郎

(54)【発明の名称】バイオセンサ

(57)【要約】

【課題】試料液中の妨害物質や溶存酸素などの影響を軽減し、信頼性の高いバイオセンサを提供する。

【解決手段】作用極、対極、および妨害物質検知電極として使用され得る第3の電極を有する電極系と、少なくとも酸化還元酵素および電子伝達体を含有する試薬層と、電極系および試薬層を支持する電気絶縁性基板とを具備し、第3の電極が作用極および対極の少なくとも一方と対向する位置に配置され、試薬層が第3の電極に接しない所定の位置に配置されているバイオセンサ。



1、11	絶縁性基板	7	第3の電極
2	作用極	10	空気孔
3、5、8	リード端子	12	スペーサ
4	対極	13	スリット
6、9	絶縁層	14	試料液供給口

【特許請求の範囲】

【請求項1】作用極、対極、および妨害物質検知電極として使用され得る第3の電極を有する電極系と、少なくとも酸化還元酵素および電子伝達体を含有する試薬層と、前記電極系および試薬層を支持する電気絶縁性基板とを具備し、第3の電極が作用極および対極の少なくとも一方と対向する位置に配置されており、前記試薬層が第3の電極に接しない所定の位置に配置されていることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項2】電気絶縁性基板と、この基板との間に試料液供給路を形成する電気絶縁性のカバー部材と、前記試料液供給路に露出するように基板またはカバー部材に形成された電極系および試薬層とを具備し、試料液供給路内において第3の電極が作用極および対極の少なくとも一方と対向し、かつ試薬層が第3の電極と接触しない位置に配置されていることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項3】レシチンを主成分とする層が、前記第3の電極以外の所定の位置に配置されている請求項1または2に記載のバイオセンサ。

【請求項4】前記試薬層が、さらに親水性高分子を含有する請求項1または2に記載のバイオセンサ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、試料中の基質について、迅速かつ高精度な定量を簡便に実施するためのバイオセンサに関する。

【0002】

【従来の技術】スクロース、グルコースなど糖類の定量分析法として、施光度計法、比色法、還元滴定法および各種クロマトグラフィーを用いた方法等が開発されている。しかし、これらの方法は、いずれも糖類に対する特異性があまり高くないので精度が悪い。これらの方法のうち上記施光度計法によれば、操作は簡便ではあるが、操作時の温度の影響を大きく受ける。従って、施光度計法は、一般の人々が家庭などで簡単に糖類を定量する方法としては適切でない。ところで、近年、酵素の有する特異的触媒作用を利用した種々のタイプのバイオセンサが開発されている。以下に、試料液中の基質の定量法の一例として、グルコースの定量法について説明する。電気化学的なグルコースの定量法としては、グルコースオキシダーゼ (EC 1. 1. 3. 4 : 以下GODと略す) と酸素電極あるいは過酸化水素電極とを使用して行う方法が一般に知られている（例えば、鈴木周一編「バイオセンサー」講談社）。

【0003】GODは、酸素を電子伝達体として、基質である β -D-グルコースをD-グルコノ- δ -ラクトンに選択的に酸化する。酸素の存在下でのGODによる酸化反応過程において、酸素が過酸化水素に還元される。酸素電極によって、この酸素の減少量を計測するか、あるいは過酸化水素電極によって過酸化水素の増加

量を計測する。酸素の減少量および過酸化水素の増加量は、試料液中のグルコースの含有量に比例するので、酸素の減少量または過酸化水素の増加量からグルコースを定量することができる。上記方法では、その反応過程からも推測できるように、測定結果は試料液に含まれる酸素濃度の影響を大きく受ける欠点があり、試料液に酸素が存在しない場合には測定が不可能となる。

【0004】そこで、酸素を電子伝達体として用いず、フェリシアン化カリウム、フェロセン誘導体、キノン誘導体等の有機化合物や金属錯体を電子伝達体として用いる新しいタイプのグルコースセンサが開発されてきた。このタイプのセンサでは、酵素反応の結果生じた電子伝達体の還元体を電極上で酸化することにより、その酸化電流量から試料液中に含まれるグルコース濃度が求められる。このような有機化合物や金属錯体を酸素の代わりに電子伝達体として用いることにより、既知量のGODとそれらの電子伝達体を安定な状態で正確に電極上に担持させて試薬層を形成することが可能となる。この場合、試薬層を乾燥状態に近い状態で電極系と一体化させることもできるので、この技術に基づいた使い捨て型のグルコースセンサが近年多くの注目を集めている。使い捨て型のグルコースセンサにおいては、測定器に着脱可能に接続されたセンサに試料液を導入するだけで容易にグルコース濃度を測定器で測定することができる。このような手法は、グルコースの定量だけに限らず、試料液中に含まれる他の基質の定量にも応用可能である。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】上記の様なセンサを用いた測定では、還元型電子伝達体を作用極上にて酸化し、その際に流れる酸化電流値に基づいて基質濃度が求められる。しかしながら、血液や果汁等が試料として用いられた場合、その試料中に含まれるアスコルビン酸、尿酸等の易酸化性物質も、還元型電子伝達体と同時に作用極上で酸化される。この易酸化性物質の酸化反応が、測定結果に影響を与える場合があった。また、上記の様なセンサを用いた測定では、試薬層に担持された電子伝達体が還元されると同時に、溶存酸素を電子伝達体として過酸化水素を生成する反応が同時に進行する。さらに、この反応で生成した過酸化水素は、還元型電子伝達体を再酸化する。結果として、還元型電子伝達体の酸化電流に基づいて基質濃度を測定する場合、溶存酸素が測定結果に負の誤差を与える場合があった。

【0006】

【課題を解決するための手段】上記の課題を解決するために本発明は、電気絶縁性基板と、前記基板に形成された作用極、対極、および妨害物質検知電極として使用され得る第3の電極を有する電極系と、少なくとも酸化還元酵素および電子伝達体を含有する試薬層とを具備するバイオセンサにおいて、第3の電極が、作用極および対極のどちらか一方、または、作用極および対極の双方と

対向する位置に配置されており、前記試薬層が、第3の電極上以外の所定の位置に配置されていることを特徴とするバイオセンサを提供するものである。レシチンを主成分とする層が前記第3の電極に接しない所定の位置、好ましくは試薬層に接して配置されていることが好ましい。また、前記試薬層は、さらに親水性高分子を含有することが好ましい。

【0007】

【発明の実施の形態】本発明のバイオセンサは、作用極および対極を含む電極系と、酸化還元酵素および電子伝達体を含む試薬層と、これらを支持する電気絶縁性基板とを具備し、前記試薬層に添加された試料液中での酵素反応の結果生じた還元型電子伝達体を作用極上にて酸化し、その際に流れる酸化電流値に基づいて基質濃度を求めるバイオセンサを改良したものである。すなわち、妨害物質検知電極として使用され得る第3の電極を付加し、この第3の電極が作用極および対極の少なくとも一方と対向するように配置し、かつ試薬層を第3の電極に接しない所定の位置に配置するものである。本発明の好ましい態様において、バイオセンサは、電気絶縁性基板と、この基板との間に試料液供給路を形成する電気絶縁性のカバー部材と、前記試料液供給路に露出するように基板またはカバー部材に形成された電極系および試薬層とからなり、試料液供給路内において第3の電極が作用極および対極の少なくとも一方と対向し、かつ試薬層が第3の電極と接触しない位置に配置されている。

【0008】本発明の他の好ましい態様において、前記カバー部材は、絶縁性基板と、試料液供給路を形成するためのスリットを有するスペーサとから構成される。すなわち、センサは、2枚の電気絶縁性基板とスペーサから構成される。この構成におけるさらに具体的な第1の例では、一方の基板に作用極と対極を設け、他方の基板に第3の電極を設ける。第2の例では、一方の基板に作用極を設け、他方の基板に対極および第3の電極を設ける。第3の例では、一方の基板に作用極および第3の電極を設け、他方の基板に対極を設ける。試薬層は、前記第1および第2の例では、作用極を有する一方の基板上に、第3の例では対極を設けた他方の基板上にそれぞれ形成される。試薬層は、第3の電極と対向する電極に接して形成するのが好ましい。しかし、試料液供給路において、試薬層が供給された試料液に溶解することにより酵素反応が生じその生成物が第3の電極に到達する前に、ある時間差をもって、試料液が第3の電極に到達するように、試薬層が配置されればよい。

【0009】本発明のバイオセンサによれば、易酸化性物質を含む試料液の場合は、試料添加後の初期段階、すなわち酵素反応により生成する還元型電子伝達体が第3の電極に到達する前においては、第3の電極と対極との間に流れる酸化電流は、易酸化性物質の濃度のみを反映する。その後、十分な時間経過後に作用極と対極との間

に流れる酸化電流を測定すれば、これは、試料中に存在していた易酸化性物質の酸化反応と、酵素反応の結果生じた還元型電子伝達体の酸化反応とに起因する。したがって、後に測定された酸化電流値を前に測定された酸化電流値で補正すれば、正確な試料中の基質濃度を求めることができる。試料液中に溶存酸素を含む場合、前記と同様の試料添加後の初期段階において、第3の電極に適当な電位を印加することにより、溶存酸素濃度を反映した酸化電流を測定することができる。酵素反応の結果生じた還元型電子伝達体を酸化する際の酸化電流により試料液中の基質濃度を求める場合、試料液中の溶存酸素は、その測定結果に負の誤差を与える。しかし、前記のように溶存酸素を反映した酸化電流値でこれを補正することにより、溶存酸素に影響されずに正確な基質濃度を求めることができる。

【0010】本発明において、試薬層に含有される酸化還元酵素としては、試料液に含まれる基質に応じて適切なものが選択される。酸化還元酵素としては、例えば、フルクトースデヒドロゲナーゼ、グルコースオキシダーゼ、アルコールオキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、キサンチンオキシダーゼ、アミノ酸オキシダーゼなどがあげられる。また、電子伝達体としては、フェリシアン化カリウム、p-ベンゾキノン、フェナジンメトサルフェート、メチレンブルー、フェロセン誘導体などがあげられる。電子伝達体は、これらの一種または二種以上が使用される。上記酵素および電子伝達体は、試料液に溶解させてもよく、試薬層を基板などに固定することによって試料液に溶けないようにしてもよい。酵素および電子伝達体を固定化する場合、試薬層は、以下に挙げる親水性高分子を含有することが好ましい。

【0011】試薬層に含ませる親水性高分子には、種々のものが使用される。例えば、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルエチルセルロース、ポリビニルビロイドン、ポリビニルアルコール、ポリリジン等のポリアミノ酸、ポリスチレンスルホン酸、ゼラチンおよびその誘導体、アクリル酸またはその塩のポリマー、メタアクリル酸またはその塩のポリマー、スターチおよびその誘導体、無水マレイン酸またはその塩のポリマーなどがあげられる。その中でも、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルエチルセルロースが好ましい。

【0012】以下の実施例においては、試料液の供給検知、アスコルビン酸、あるいは溶存酸素検出のための第3の電極への印加電位を500mV、あるいは-130

0 mVとしたが、これに限定されることはない。また、応答電流を得るための作用極への印加電位を500 mVとしたが、これに限定されることはなく、一連の反応の結果生じた電子伝達体の還元形を酸化できる電位であればよい。電流値を測定する時間についても、実施例に記載の特定値に限定されることはない。また、実施例では、電極系の例を図示したが、電極形状、電極およびリードの配置、センサ部材の組み合わせ方法等はこれらに限定されるものではない。実施例では、第3の電極の電極材料としてカーボンについて述べたが、これに限定されることはなく、他の導電性材料や銀／塩化銀電極なども使用できる。

【0013】

【実施例】以下、本発明を実施例により説明する。

《実施例1》バイオセンサの一例としてグルコースセンサについて説明する。図1は、試薬層を除いたグルコースセンサの分解斜視図である。一方の絶縁性基板1には、作用極2および対極4が設けられ、さらにこれらに電気的に接続されたリード3および5がそれぞれ設けられている。もう一方の絶縁性基板11には、第3の電極7が設けられ、さらに電極7に電気的に接続されたリード8が設けられている。基板1には、作用極2および対極4を覆うように、外周が対極4の外周に沿った円形の試薬層(図示しない)が設けられている。図中、6および9は絶縁層である。このグルコースセンサは、ポリエチレンテレフタレートからなる2枚の絶縁性基板1および11と、前記両基板の間にサンドイッチされるスペーサ12とから組み立てられる。これらが図1の中の破線で示すような位置関係をもって接着されてグルコースセンサが構成される。スペーサ12には、試料液供給路を形成するスリット13が形成され、また、一方の絶縁性基板11には空気孔10が形成されている。両基板1、11を間にスペーサ12を挟んで積層し接着すると、両基板1、11、およびスペーサ12によって、試料液供給路となる空間部(図示しない)が形成される。この空間部は、始端部となるスリットの解放端部14が試料液供給口となり、終端部は空気孔10に連通する。ここで、基板11とスペーサ12の組み合わせは、上記のカバー部材に相当するものであり、この例では2つの部材で構成されているが、スペーサ12のスリット13に相当する溝を設けた1つの部材で構成することもできる。

【0014】上記グルコースセンサは以下のようにして作製した。ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁性基板1上に、スクリーン印刷により銀ペーストを印刷しリード端子3および5をそれぞれ形成した。もう一方の絶縁性基板11上にも銀ペーストを印刷し、リード端子8を形成した。次に、樹脂バインダーを含む導電性カーボンペーストを絶縁性基板1上に印刷して作用極2を形成した。同様に、第3の電極7をもう一方の絶縁性基板11上に形成した。作用極2および第3の電極7はそれ

ぞれリード端子3および8と電気的に接触している。次に、絶縁性基板1および11上に、絶縁性ペーストを印刷してそれぞれ絶縁層6および9を形成した。絶縁層6および9は、それぞれ作用極2および第3の電極7の外周部を覆っており、これによって作用極2および第3の電極7の露出部分の面積は一定に保たれる。絶縁層6および9は、それぞれリード端子3、5、および7の一部を覆っている。次に、樹脂バインダーを含む導電性カーボンペーストを絶縁性基板1上に印刷して対極4を形成した。対極4は、リード端子5と電気的に接触している。次に、作用極2および対極4上に、酵素としてGOD、電子伝達体としてフェリシアン化カリウムを含有する水溶液を滴下し、乾燥させることにより、試薬層を形成した。

【0015】さらに前記試薬層上に、試料液の試薬層への供給をより一層円滑にするために、レシチンの有機溶媒溶液、例えばトルエン溶液を、試料液供給口14から試薬層上にわたって広げ、乾燥させることによりレシチン層を形成した。しかしながら、レシチン層を第3の電極7に接触するように配置した場合には、応答のばらつきが大きくなる。これは、第3の電極7の表面がレシチン層により変化を来たし、それに起因するものと思われる。次に、両基板1、11およびスペーサ12を、図1中の一点鎖線で示すような位置関係をもって接着することによりグルコースセンサを作製した。第3の電極7、作用極2および対極4が同一平面上に配置された場合、第3の電極7上の第一部を試薬層が覆ってしまい、測定結果に誤差を生じる場合があった。しかしながら、上記のようなセンサ系では、第3の電極7が、作用極2および対極4と対向する位置に配置されるために、上記のような試薬層形成に起因する誤差が大幅に低減される。

【0016】上記のセンサを専用測定器に装着し、対極4を基準にして第3の電極7に500 mVの電位を印加した。この電位を印加した状態で、妨害物質としてアスコルビン酸を含むグルコース水溶液 $3\mu l$ を、試料液として試料液供給口14より供給した。試料液は空間部を通って空気孔10にまで達し、電極系上の試薬層が溶解した。試料液の供給と同時に、第3の電極7と対極4間の電気的変化に基づいて、すなわち、前記両電極が試料液により液絡したことに基づいて、液の供給を検知するシステムが動作することにより、測定タイマーが始動した。この時、第3の電極7と対極4との間に電位は印加され続けており、試料液の供給が検知されてから一定時間経過後に、第3の電極7と対極4間の電流値を測定した。この電流値は、妨害物質として含まれるアスコルビン酸の酸化反応に起因し、その濃度に対して比例関係を与えた。第3の電極7と対極4間の電流値を測定した後、両電極間の電圧印加を解除した。

【0017】上述したように、第3の電極7は、作用極2および対極4と対向する位置に配置されており、第3

の電極7上には試薬層が配置されていない。よって、酵素反応の結果生成したフェロシアン化イオンが第3の電極7近傍に到達するまでは、若干の時間を必要とする。すなわち、フェロシアン化イオン到達までの時間内における第3の電極7と対極4間の電流値は、主にアスコルビン酸の濃度のみを反映する。さらに、試料液の供給を検知してから25秒後、対極4を基準にして作用極2に500mVの電位を印加し、作用極2と対極4間に流れる5秒後の電流値を測定した。試薬層を溶解した試料液中のフェリシアン化イオン、グルコース、およびGODが反応し、その結果、グルコースがグルコノラクトンに酸化され、フェリシアン化イオンがフェロシアン化イオンに還元される。このフェロシアン化イオンの濃度は、グルコースの濃度に比例する。試料液の検知から30秒後の作用極2と対極4間の電流は、フェロシアン化イオンと、あらかじめ存在するアスコルビン酸の酸化反応に起因する。すなわち、アスコルビン酸が測定結果に正の誤差を与えることとなる。しかしながら、上述のように、第3の電極7と対極4間の電流値は主にアスコルビン酸の濃度のみを反映する。そこで、その結果に基づき測定結果を補正することにより、アスコルビン酸の影響を除去し正確なグルコース濃度を求めることができる。

【0018】《実施例2》試薬層が、さらに、カルボキシメチルセルロース（以下CMCと略称する）を含むこと以外は全て実施例1と同様にしてグルコースセンサを作製し、実施例1と同様の測定を行った。まず、基板1の作用極2および対極4上に、CMCの水溶液を滴下し、乾燥することによりCMC層を形成した。次に、酵素および電子伝達体の混合水溶液を前記CMC層上に滴下すると、CMC層は一度溶解し、その後の乾燥過程で酵素などと混合された形で試薬層を形成する。しかし、攪拌等を伴わないため完全な混合状態とはならず、電極系表面はCMCのみによって被覆された状態となる。すなわち、酵素および電子伝達体などが電極系表面に接触しないので、電極系表面へのタンパク質の吸着などを防ぐことができる。その結果、センサ応答のばらつきが減少した。

【0019】《実施例3》図2は、試薬層を除いたグルコースセンサの分解斜視図である。一方の絶縁性基板1上には作用極2およびカーボン層15を、もう一方の絶縁性基板11上には第3の電極7および対極4を、実施例1と同様の方法にてそれぞれ形成した。さらに、試薬層およびレシチン層を作用極2およびカーボン層15上に実施例2と同様にして形成した。ここで、カーボン層15は、電極としては機能していない。しかしながら、作用極2の周囲にカーボン層15を配置することにより、試薬層の形成が容易になる。実施例1と同様に、両基板1、11およびスペーサ12を貼り合わせることにより、グルコースセンサを作製した。次に、実施例1と同様に、アスコルビン酸が混在するグルコース水溶液を用いて、グルコース濃度の測定を行った。その結果、アスコルビン酸の影響を除去し正確なグルコース濃度求めることができた。本実施例の場合は、対極4dの電極面積を作用極2および第3の電極7に比べてより広く保つことができる。また、対極4d上に試薬層が配置されているために、電位印加時の基準電極電位がより安定する。これらの効果により、センサ応答のばらつきが軽減された。

同様に、アスコルビン酸が混在するグルコース溶液を用いて、グルコース濃度の測定を行った。その結果、アスコルビン酸の影響を除去し正確なグルコース濃度求めることができた。グルコース濃度が高濃度域（約1000mg/dl以上）の場合は、作用極2-対極4間の電流値も増加する。すなわち、対極4上で生成する副生成物も多量になるために、作用極の周囲に対極を配置した場合、副生成物がセンサ応答に影響を与える場合がある。本実施例のような電極配置を導入すると、そのような影響が軽減される。

【0020】《実施例4》図3は、試薬層を除いたグルコースセンサの分解斜視図である。一方の絶縁性基板1上には作用極2および第3の電極7を、もう一方の絶縁性基板11上には対極4dを、実施例1と同様の方法にてそれぞれ形成した。さらに、試薬層およびレシチン層を実施例2と同様にして対極4d上に形成した。実施例1と同様に、両基板1、11およびスペーサ12を貼り合わせることにより、グルコースセンサを作製した。次に、実施例1と同様に、アスコルビン酸が混在するグルコース水溶液を用いて、グルコース濃度の測定を行った。その結果、アスコルビン酸の影響を除去し正確なグルコース濃度求めることができた。本実施例の場合は、対極4dの電極面積を作用極2および第3の電極7に比べてより広く保つことができる。また、対極4d上に試薬層が配置されているために、電位印加時の基準電極電位がより安定する。これらの効果により、センサ応答のばらつきが軽減された。

【0021】《実施例5》実施例2と同様にしてグルコースセンサを作製した。専用測定器にセンサを装着し、対極4を基準にして第3の電極7に-1300mVの電位を印加した。この電位を印加した状態で、空気飽和状態のグルコース水溶液3μlを、試料液として試料液供給口14より供給した。試料液は空間部を通って空気孔10にまで達し、電極系上の試薬層が溶解した。試料液の供給とともに、対極4と第3の電極7間の電気的変化に基づいて液の供給を検知するシステムが動作することにより、測定タイマーが始動した。この時、対極4と第3の電極7間に電位は印加され続けており、試料液の供給を検知してから一定時間経過後に、対極4と第3の電極7間の電流値を測定した。この電流値は溶存酸素の還元反応に起因し、アルゴンにて脱気したグルコース溶液を供給した場合には、その還元電流は激減した。対極4と第3の電極7間の電流値を測定した後、両電極間の電圧印加を解除した。

【0022】上述したように、第3の電極7上には試薬層が配置されていない。よって、試薬層に含有するフェリシアン化イオンが第3の電極7近傍に到達するまでは、若干の時間を必要とする。すなわち、フェリシアン化イオン到達までの時間内における対極4と第3の電極7間の電流値は、主に溶存酸素濃度のみを反映する。さ

らに、試料液検知から25秒後、第3の電極7を基準にして作用極2に500mVの電位を印加し、対極4と作用極2間の5秒後の電流値を測定した。液中のフェリシアン化イオン、グルコース、およびGODが反応し、その結果、グルコースがグルコノラクトンに酸化され、フェリシアン化イオンがフェロシアン化イオンに還元される。一方、この反応の競争反応として、グルコノラクトンと過酸化水素が生成する酵素反応が、酸素を電子伝達体として同時に進行する。さらに、この反応にて生成する過酸化水素は、フェロシアン化イオンをフェリシアン化イオンに再酸化する。結果として、フェロシアン化イオンの酸化電流に基づいてグルコース濃度を測定する場合、溶存酸素は測定結果に負の誤差を与える。しかしながら、上述したように、対極4と第3の電極7間の電流値は主に溶存酸素濃度のみを反映する。そこで、その結果に基づき測定結果を補正することで、溶存酸素の影響を除去し正確なグルコース濃度を求めることができる。

【0023】《実施例6》実施例2と同様にしてグルコースセンサを作製した。専用測定器にセンサを装着し、対極4を基準にして第3の電極7に500mVの電位を印加した。この電位を印加した状態で、空気飽和状態のアスコルビン酸を含むグルコース水溶液 $3\mu l$ を、試料液として試料液供給口14より供給した。試料液は空間部を通って空気孔10にまで達し、電極系上の試薬層が溶解した。試料液の供給と同時に、電極系の対極4と第3の電極7間の電気的変化に基づいて液の供給を検知するシステムが動作することにより、測定タイマーが始動した。この時、対極4と第3の電極7間に電位は印加され続けている。

【0024】さらに、試料液の供給を検知してから2秒経過後、第3の電極7への印加電位を-1300mVにステップした。-1300mVに電位をステップする直前、および-1300mVにステップしてから3秒後の、二点における対極4と第3の電極7間の電流値を測定した。-1300mVに電位をステップする直前の電流値は、主としてアスコルビン酸濃度に依存する。一方、-1300mVにステップしてから3秒後の電流値

は、主として溶存酸素濃度に依存する。試料液供給から2秒後、および5秒後の対極4と第3の電極7間の電流値を測定した後、両電極間の電圧印加を解除した。さらに、試料液検知から25秒後、第3の電極7を基準にして作用極2に500mVの電位を印加し、対極4と作用極2間の5秒後の電流値を測定した。上述したように、対極4と第3の電極7間の電流値は主にアスコルビン酸および溶存酸素濃度を反映するため、その電流値に基づき両物質の濃度を求めることができる。そこで、その結果に基づき測定結果を補正することにより、アスコルビン酸および溶存酸素の影響を除去し、正確なグルコース濃度を求めることができる。

【0025】

【発明の効果】以上のように本発明によると、高い信頼性を有するバイオセンサを提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の一実施例におけるグルコースセンサの試薬層を除去した状態の分解斜視図である。

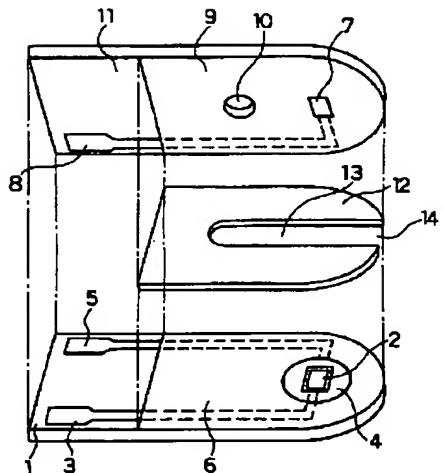
【図2】本発明の他の実施例におけるグルコースセンサの試薬層を除去した状態の分解斜視図である。

【図3】本発明のさらに他の実施例におけるグルコースセンサの試薬層を除去した状態の分解斜視図である。

【符号の説明】

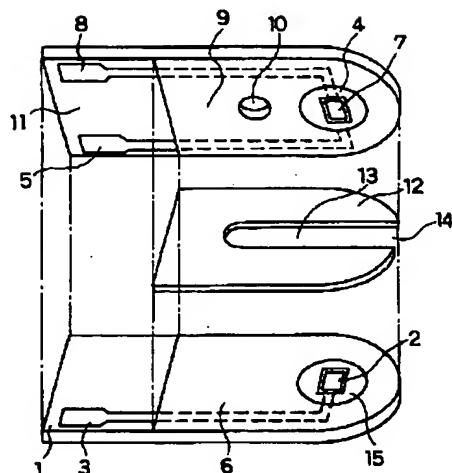
- 1、11 絶縁性基板
- 2 作用極
- 3 作用極リード端子
- 4、4d 対極
- 5 対極リード端子
- 6、9 絶縁層
- 7 第3の電極
- 8 第3の電極リード端子
- 10 空気孔
- 12 スペーサ
- 13 試料液供給路を形成するスリット
- 14 試料液供給口
- 15 カーボン層

【図1】



1、1' 絶縁性基板	7 第3の電極
2 作用極	10 空気孔
3、5、8 リード端子	12 スペーサ
4 対極	13 スリット
6、9 絶縁層	14 試料液供給口

【図2】



【図3】

